

University of Groningen

## The interaction between the mucosal immune system and the commensal microflora of the colon

Waaij, Laurens Anthonie van der

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2003

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Waaij, L. A. V. D. (2003). *The interaction between the mucosal immune system and the commensal microflora of the colon*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## Nederlandse samenvatting

**Hoofdstuk 1** is de algemene inleiding van dit proefschrift en begint met een kort stukje over chronische darmontstekingen (Inflammatory Bowel Disease (IBD)). De mogelijke rol van genetische factoren, omgevings factoren, dysregulatie van het mucosale afweersysteem, de epitheel-mucus barriere en de commensale bacteriële darmflora in de pathogenese van IBD wordt besproken. Ook wordt ingegaan op de mogelijke interactie mechanismen tussen gastheer en zijn commensale bacteriële darmflora.

In **Hoofdstuk 2** wordt een methode beschreven waarbij met behulp van flow cytometrische analyse antilichamen die *in vivo* gecoat zijn op ongekwakte anaerobe bacteriën in humane faeces bepaald kunnen worden. Deze methode is snel (1.000 bacteriën per seconde), gevoelig en goed reproduceerbaar. Met behulp van deze methode kan de interactie tussen het humorale afweer systeem en de commensale bacteriële darmflora geanalyseerd worden.

In **Hoofdstuk 3** wordt de interactie tussen het humorale mucosale afweer systeem en de commensale bacteriële darmflora in gezonde mensen geanalyseerd met een flow cytometer. In faeces monsters van 22 gezonde vrijwilligers werd de *in vivo* antilichaam coating van anaerobe bacteriën bepaald. Hierbij bleek  $45 \pm 14\%$  van de bacteriën gecoat met IgA,  $25 \pm 8\%$  met IgG en  $11 \pm 6\%$  met IgM. De mogelijke pathofysiologische betekenis van deze antilichaam coating wordt besproken. Het relatief hoge percentage gecoate bacteriën suggereert een intensieve interactie tussen de darmflora en het mucosale afweer systeem.

In **Hoofdstuk 4** wordt de interactie tussen het humorale mucosale afweer systeem en de commensale bacteriële darmflora in patiënten met IBD en infectieuze colitis geanalyseerd. IBD patiënten hadden  $69 \pm 19\%$  van de faecale bacteriën gecoat met IgA,  $56 \pm 32\%$  met IgG en  $56 \pm 29\%$  met IgM. Gezonde proefpersonen hadden een geringere antilichaam coating: respectievelijk  $36 \pm 12\%$ ,  $11 \pm 4\%$  en  $11 \pm 7\%$  (allen:  $p < 0.00001$ ). Antilichaam coating bij patiënten met een infectieuze colitis was IgA:  $57 \pm 14\%$ , IgG:  $31 \pm 13\%$  ( $p < 0.05$ , IBD) en IgM:  $42 \pm 16\%$ . IBD patiënten waarbij de darmontsteking tot rust kwam hadden: IgA:  $65 \pm 20\%$ , IgG:  $32 \pm 18\%$ , IgM:  $40 \pm 21\%$ . IBD patiënten die meer dan 2 jaar geen actieve darmontsteking hadden gehad hadden normale IgG and IgM, echter toegenomen IgA ( $50 \pm 16\%$ ) coating. Onze hypothese is dat bij IBD het grootste deel van de gecoate antilichamen afkomstig is van het mucosale afweersysteem, terwijl bij infectieuze colitis de gecoate antilichamen mogelijk vanuit het bloed naar de darm zijn gelekt. De toegenomen antilichaam coating bij IBD ondersteunt de hypothese dat er bij IBD een toegenomen mucosale afweer respons is tegen de eigen commensale bacteriële darmflora. Dit zou veroorzaakt kunnen zijn door hetzij een verlies van immunologische mucosale tolerantie voor de commensale darmflora, hetzij een toegenomen interactie tussen de darmbacteriën en het mucosale afweer systeem.

Welke bacteriën zijn nu wel of juist niet met IgA gecoat ? Om deze vraag te beantwoorden hebben we in **hoofdstuk 5** de boven beschreven flow cytometrische analyse methode uitgebreid met fluorescent in situ hybridisation (FISH). In vergelijking met een al bestaande beeldverwerkingsmethode is flow cytometrie sneller en mogelijk gevoeliger. Echter bacteriële populaties kleiner dan 2% konden niet betrouwbaar met de flow cytometer bepaald worden. Ook bleek de gevoeligheid voor het bepalen van de antilichaam coating te verminderen door de fixatie en uitgebreide wasstappen. Met FISH konden verschillende bacteriële groepen worden

geïdentificeerd en hun IgA coating bepaald. Uit analyse van faeces monsters van 9 gezonde proefpersonen bleek dat bifidobacteriën preferentieel gecoat zijn met IgA.

Tenslotte wordt in **hoofdstuk 6** de interactie tussen de commensale bakteriële darmflora en de gastheer bestudeerd op microscopisch anatomisch niveau: de darmflora aanwezig bij de mucuslaag. We stelden ons de volgende vragen: (1) bestaat er een specifieke mucus-adherente darmflora ? en (2) is er direct contact tussen commensale bacteriën en epitheel cellen ? Hiertoe hebben we biopsiën genomen uit 5 colon regio's en uit het terminale ileum van 9 proefpersonen. Ook werd een faecesmonster verzameld. Bacteriën werden in de coupes gedetekteerd m.b.v. FISH met 16S rRNA targeted probes gericht tegen alle bacteriën of specifiek voor bepaalde bakteriële groepen. Met deze gevoelige methode bleken de bacteriën alleen aan de lumenzijde van de mucuslaag aanwezig. Slechts enkele microkolonies werden gezien in de mucus laag en de samenstelling van de darmflora in de faeces was identiek aan die in de mucuslaag. Deze bevindingen suggereren dat commensale bacteriën in het lumen in suspensie leven en dat er vermoedelijk geen specifiek mucus-adherente darmflora bestaat. Er was geen direct contact tussen bacteriën en epitheelcellen. Deze bevindingen maken het onwaarschijnlijk dat een toegenomen penetratie van de mucus door bacteriën verantwoordelijk is voor de in hoofdstuk 4 beschreven toegenomen interactie tussen bacteriën en mucosaal afweer systeem.